IMMUCOR

PakAuto® coffret

REF PakAuto IVD CE

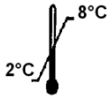


TABLE DE MATIÉRES

UTILISATIONS PRÉVUES **2**
SOMMAIRE ET EXPLICATION **2**
PRINCIPE **2**
COMPOSITION DU COFFRET **2**
PRÉCAUTIONS **3**
AVERTISSEMENTS **3**
ÉCHANTILLONS **3**
MODE OPÉRATOIRE **4**
Matériel Fourni 4
Matériel Nécessaire non Fourni 4
Procédure 4
CONTROLE QUALITÉ **7**
INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS **8**
LIMITES DE LA TECHNIQUE **8**
PERFORMANCES SPÉCIFIQUES **8**
RÉFÉRENCES **9**

UTILISATIONS PRÉVUES

PakAuto coffret est un essai qualitatif par la méthode (ÉLISA) enzyme linked immunosorbent assay en phase solide conçu pour détecter les auto-anticorps plaquettaires élués de plaquettes de patients ou en circulation dans le sérum ou le plasma de patients.

SOMMAIRE ET EXPLICATION

Le purpura thrombocytopénique autoimmun (PTAI) est une des causes les plus communes de thrombocytopénie autoimmune. Environ la moitié des cas de PTAI se produisent en association avec d'autres états tels que lymphome, lupus érythémateux disséminé et infection au VIH, les autres cas étant considérés comme des cas "idiopathiques". D'après les évidences cliniques, le PTAI se classe en deux catégories: le PTAI aigu, un trouble de l'enfance habituellement limité à cette seule condition, et le PTAI chronique, se produisant chez les adultes et qui diminue rarement de façon spontanée.

La plupart des anticorps associés au PTAI reconnaissent des glycoprotéines des membranes de plaquettes, tout spécialement les protéines GPIIb/IIIa, GPIb/IX, et GPIa/IIa.[1,2] Des anticorps circulants réactifs avec ces protéines peuvent souvent être détectés dans le plasma ou le sérum des patients atteints de PTAI,[1,2,3,4,5]. Il est cependant préférable, pour confirmer l'autoréactivité, de caractériser des immunoglobulines associées aux plaquettes, préparées à partir d'un plasma riche en plaquettes et éluées de la surface plaquettaire. Plusieurs tests pour l'identification des immunoglobulines associées aux plaquettes manquent en spécificité puisqu'ils produisent souvent des résultats faux positifs chez des patients atteints de thrombocytopénie de type non-immun.[2]

Les micropuits ÉLISA en phase solide PakAuto contiennent les glycoprotéines IIb/IIIa, Ib/IX et Ia/IIa isolées par anticorps monoclonaux. Ce test est conçu pour détecter des auto-anticorps spécifiques de glycoprotéines plaquettaires dans le sérum ou le plasma des patients (auto-anticorps circulants) ou des auto-anticorps élués de la surface de leurs plaquettes. La configuration des puits se trouve sur le tableau de résultats.

PRINCIPE

Le sérum ou le plasma est utilisé pour détecter les auto-anticorps circulants alors que l'éluat dérivé d'un sérum riche en plaquettes est utilisé pour détecter les auto-anticorps présents à la surface des plaquettes du patient. L'échantillon est ajouté aux micropuits enrobés de glycoprotéines plaquettaires permettant à l'anticorps, si présent, de se lier. Les anticorps non liés sont alors lavés. Un réactif anti-globuline humaine conjugué à la phosphatase alcaline (Anti-IgG/A/M) est ajouté aux puits et incubé. Les Anti-IgG/A/M non liés sont lavés et le substrat PNPP (p-nitrophényl phosphate) est ajouté. Après 30 min d'incubation la réaction est arrêtée. La densité optique de la couleur qui se développe est mesurée au spectrophotomètre.

COMPOSITION DU COFFRET

Nombre maximal de tests par coffret:

- **PakAuto: 5 tests par coffret**

Tous les réactifs devraient être entreposés selon les instructions indiquées sur l'étiquette.

	REF	
MS	404552	Micropuits: bandes avec micropuits à fond plat auxquels des glycoprotéines plaquettaires IIb/IIIa, Ib/IX, et Ia/IIa ont été attachées. Les bandes sont incluses dans des sachets refermables. Prêt à utiliser.
TCW	403622	Solution de lavage concentrée (10X): Solution tamponnée de Tris (hydroxyméthyl) aminométhane contenant du chlorure de sodium et du Tween 20. 1% d'azide de sodium. Diluer avec de l'eau déionisée ou distillée avant utilisation. Conserver la solution de lavage de travail jusqu'à 48 heures à la température de la pièce ou jusqu'à 7 jours à une température de 2 à 8°C.
SD	403831	Tampon pour échantillon: Solution saline tamponnée au phosphate contenant de l'albumine bovine et du sérum de souris. 0,1% d'azide de sodium. Prêt à utiliser.
SB	403613	Tampon de substrat: Cette solution contient du diéthanolamine et du chlorure de magnésium. 0,02% d'azide de sodium. Prêt à utiliser. A protéger de la lumière
ESS	403603	Solution d'arrêt: Prêt à utiliser.
AH	404588	Anti-Human IgG/A/M Conjugué: Anticorps de chèvre anti-immunoglobuline (IgG/A/M) humaine, purifié par affinité et conjugué à la phosphatase alcaline. 0,1% d'azide de sodium. Diluer avec le tampon pour échantillon avant utilisation.

CRP	404590	Solution de préservation et resuspension cellulaire: solution saline tamponnée au phosphate contenant de l'EDTA. 0.1% d'azide de sodium. Prêt à utiliser.
BS	404560	Solution pour tamponner: solution de Tris contenant de l'albumine bovine. 0,1% d'azide de sodium.
ES	404565	Solution d'élution: un tampon de glycine à faible pH.
PN	403594	Substrat PNPP (p-nitrophényl phosphate): Poudre crystalline. Reconstituer avec de l'eau déionisée ou distillée et diluer avec le tampon de substrat avant utilisation. A protéger de la lumière.
PC	404600	Sérum contrôle positif: sérum humain. 0,1% d'azide de sodium. A diluer dans le tampon pour échantillon avant utilisation.
NC	404576	Sérum contrôle négatif: sérum humain. 0,1% d'azide de sodium. A diluer dans le tampon pour échantillon avant utilisation.
PCP	404579	Contrôle de plaquettes positives (contrôle d'éluat positif): plaquettes humaines enrobées avec un anticorps, séchées au vacuum. Réhydrater avec la solution de préservation et resuspension cellulaire avant d'utiliser.
NCP	404578	Contrôle de plaquettes normales (contrôle d'éluat négatif): pool de plaquettes humaines, séchées au vacuum. Réhydrater avec la solution de préservation et resuspension cellulaire avant d'utiliser.
PS	503019	Scellants pour plaques.

PRÉCAUTIONS

- Ne pas utiliser de réactifs qui sont turbides ou contaminés.
- Prendre des précautions pour éviter la contamination du tampon pour échantillon et du conjugué. Une contamination involontaire de ces réactifs avec du sérum humain ou du plasma entraînera la neutralisation du conjugué et ainsi l'échec du test.
- Ne pas utiliser de réactifs au-delà de la date de péremption.
- Les micropuits et les réactifs inclus dans ce coffret ne doivent pas être utilisés conjointement avec aucun autre ensemble de test.
- La substitution de composantes autres que ceux fournies dans ce coffret peut entraîner des résultats incohérents ou erronés.
- Après chaque essai, jeter l'excédent du conjugué dilué, du sérum contrôle positif dilué, du sérum contrôle négatif dilué et du réactif PNPP reconstitué et dilué.
- Lors de la préparation des dilutions, pipetter selon les instructions du fabricant afin d'assurer des techniques de distribution et de rinçage appropriées.
- La réaction entre l'enzyme et le substrat, se produisant lors de l'incubation finale, est sensible à la température et la lumière et doit être exécutée dans un environnement contrôlé de 22-25°C, à l'abri de la lumière.

AVERTISSEMENTS

- Tous les sérums d'origine humaine utilisés dans les contrôles négatifs et positifs ont été testés et trouvés négatifs concernant les anticorps anti-VIH 1+2, l'hépatite C et l'antigène HBs. Cependant aucune méthode ne peut offrir une totale assurance de l'absence de ces virus ou autres agents infectieux. Par conséquent, ces matériaux doivent être manipulés comme des produits potentiellement infectieux.
- Certains réactifs fournis dans ce coffret contiennent l'azide de sodium comme agent de conservation.
  MISE EN GARDE: L'azide de sodium réagit avec le plomb et le cuivre de la plomberie pour former des métaux azides hautement explosifs. Lorsque jeté dans l'évier, il est recommandé de rincer avec beaucoup d'eau pour éviter la concentration d'azide. L'azide de sodium est un poison, toxique si ingéré.
- Jeter tous les composants de la trousse selon les règlements locaux.

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma pauvre en plaquettes - Pour la détection des auto-anticorps circulants

Le sang doit être prélevé, par une technique aseptique, sur tube EDTA ou sur tube sec. Il doit être testé alors qu'il est encore frais. Le sérum ou le plasma pauvre en plaquettes qui ne peut être testé immédiatement doit être conservé entre 2 et 8°C maximum 48 heures ou être congelé. Les échantillons congelés à -20°C ou moins se conservent bien pendant 2 ans.

Le sérum ou le plasma doit être séparé des globules rouges avant d'être expédié ou conservé.

Des particules ou des agrégats dans l'échantillon peuvent causer des résultats faux positifs ou de mauvaises valeurs de duplicatas. Ces échantillons devraient être centrifugés avant d'être testés.

Les échantillons doivent être aliquotés en petits volumes avant la congélation pour éviter des cycles de congélation-décongélation.

Des échantillons contaminés par des microbes, hémolysés, lipémiques, ictériques ou inactivés par la chaleur peuvent donner des résultats incohérents et devraient être évités.

Plaquettes ou plasma riche en plaquettes - Pour la détection des auto-anticorps élués de la surface des plaquettes

Le sang doit être prélevé, par une technique aseptique, sur EDTA.[8,9] Conserver le sang total ou le plasma riche en plaquettes à température ambiante (20° à 25°C). Ne pas mettre au frigo ni congeler les plaquettes ou le plasma riche en plaquettes.

Un minimum de 1 x 10^7 plaquettes est nécessaire (de préférence 5 x 10^7 plaquettes) pour la préparation des éluats plaquettaires. Une quantité suffisante d'échantillon peut être obtenue en prélevant deux tubes de 7 ml de sang total chez les patients dont le nombre de plaquettes est ≥ 10.000/µL.

NOTE: L'expédition d'échantillons sanguins peut causer une réduction de plaquettes. Lorsque les échantillons ont besoin d'être transportés, il est préférable de prélever un plus grand volume pour assurer une quantité suffisante de plaquettes pour l'élution.

Tester rapidement les éluats préparés ou les conserver à -80°C pour une analyse ultérieure.

MODE OPÉRATOIRE

Matériel Fourni

Les fioles peuvent contenir une quantité de réactif plus grande que celle indiquée sur l'étiquette. Bien mesurer le réactif avec un instrument approprié pour préparer les dilutions.

1. 6 – 2 x 8 bandes de micropuits
2. 1 x 50 ml solution de lavage concentrée (10X)
3. 1 x 14 ml tampon pour échantillon
4. 1 x 14 ml tampon de substrat
5. 1 x 14 ml solution d'arrêt
6. 1 x 80 µl conjugué anti-IgG/A/M humain
7. 1 x 50 ml solution de préservation et resuspension cellulaire
8. 1 x 2.5 ml solution tampon
9. 1 x 2.5 ml solution d'élution
10. 3 x 50 mg substrat PNPP
11. 1 x 0.3 ml sérum contrôle positif
12. 1 x 0.7 ml sérum contrôle négatif
13. 1 contrôle de plaquettes positives
14. 1 contrôle de plaquettes normales
15. 6 scellants pour plaques

Matériel Nécessaire non Fourni

1. Tubes à essai pour échantillons de patients, dilution des contrôles et dilution des réactifs.
2. Pipettes de transfert
3. Micropipettes ajustables pour distribuer 10 – 100 µl et 100 – 1000 µl avec des embouts jetables
4. Chronomètre
5. Lecteur de microplaque capable de mesurer des densités optiques de 405, 410, et 490 nm
6. Eau déionisée ou distillée
7. Serviettes de papier absorbant
8. Instrument pour laver les microplaques
9. Centrifugeuse capable de séparer le sérum ou le plasma des échantillons de patients
10. Incubateur ou bain-marie à 37°C
11. Tubes pour microcentrifugeuse
12. Microcentrifugeuse pour préparer les culots de plaquettes
13. Plaquettes normales (5 x 10^7) pour contrôle d'élution

Procédure

1. Amener tous les réactifs à la température ambiante entre 22° et 25°C.

2. Préparer une solution de lavage en diluant la solution de lavage concentrée. Ajouter 1 volume de solution de lavage concentrée à 9 volumes d'eau déionisée ou distillée. **Bien mélanger**.

3. Déterminer le nombre d'échantillons (éluat ou sérum/plasma) à tester. Utiliser le tableau de résultats pour assigner chaque échantillon à un emplacement consistant en une colonne. Noter l'identité de chaque échantillon sur le tableau de résultats.

Préparation des échantillons plaquettaires

4. Préparer les culots de plaquettes de patients ou de donneurs de plaquettes normaux comme suit:

   a) Préparer un plasma riche en plaquettes (PRP) en centrifugeant les échantillons de sang sur EDTA entre 110 et 150 rcf pendant 10 à 15 minutes.
   b) Transférer le PRP dans un nouveau tube de polypropylène et centrifuger à 10.600 rcf pendant 5 à 10 minutes pour obtenir un culot de plaquettes.
      Prélever le plasma, sans rompre le culot, en utilisant une pipette de transfert.
   c) Ajouter 500 µl de solution de préservation et resuspension cellulaire (CRP) au culot de plaquettes et bien mélanger avec une pipette de transfert pour rompre complètement le culot afin de le remettre en suspension. Transférer la suspension plaquettaire dans un tube pour microcentrifugeuse et laver trois fois comme décrit ci-dessus avec au moins 500 µl de CRP. S'assurer que le culot plaquettaire est complètement remis en suspension à chacun des lavages afin de permettre de retirer tout le plasma de la surface des plaquettes.
   d) Après le lavage final, préparer un culot de plaquettes contenant entre 1 et 5 X 10^7 plaquettes. Cela se fait en remettant les plaquettes en suspension avec du CRP et en ajustant le nombre de plaquettes entre 10.000 et 50.000 plaquettes par µl. Transférer 1 ml dans un tube pour microcentrifugeuse et centrifuger pendant 5 minutes à 10.600 rcf pour obtenir un culot. (Autrement dit, 5 à 10 µl d'un culot de plaquettes devrait contenir suffisamment de plaquettes pour réaliser l'élution. Comparer le culot à un tube identique contenant de 5 à 10 µl de diluant de l'échantillon).
   e) Après avoir pipeté le culot de plaquettes, enlever entièrement le CRP résiduel en utilisant une pipette de transfert. Ne pas rompre le culot de plaquettes.

Préparation des plaquettes contrôles

5. Préparer les culots de plaquettes contrôles comme suit:

   Ajouter 500 µl de solution de préservation et resuspension cellulaire (CRP) aux plaquettes contrôles positives (éluat de contrôle positif) et, au besoin, aux plaquettes de contrôles normales (éluat de contrôle négatif). Laisser reposer à température ambiante au moins 10 minutes afin de réhydrater. Bien mélanger avec une pipette de transfert pour rompre complètement le culot afin de le remettre en suspension. Centrifuger dans un tube pour microcentrifugeuse 5 à 10 minutes à 10.600 rcf.
   Décanter ou aspirer le surnageant et sécher le tampon restant pour obtenir un culot de plaquettes sec.

NOTE: Il est préférable d'utiliser des plaquettes normales fraîches pour l'éluat de contrôle négatif, mais des plaquettes lyophilisées ont été fournies si des plaquettes normales n'étaient pas disponibles.

NOTE: L'éluat de contrôle positif peut être surgelé pour une utilisation ultérieure. Ne pas congeler et décongeler l'éluat de contrôle préparé plus de deux fois.

Préparation des échantillons et des éluats contrôles:

6. Préparer l'échantillon et les éluats contrôles comme suit:

   a) Avant de procéder, s'assurer que tous les culots de plaquettes ont bien sédimenté et que tout le CRP restant a été enlevé. Il est impératif de retirer le CRP résiduel fin de garantir que l'éluat préparé ne sera pas dilué.
   b) Ajouter 180 µl de solution d'élution à chacun des culots de plaquettes et mélanger à l'aide d'une pipette. Laisser reposer à température ambiante pendant 2 minutes. Centrifuger 5 à 10 minutes à 10.600 rcf dans un microtube.
   c) Transférer rapidement les surnageants (les éluats) dans un nouveau tube pour microcentrifugeuse et ajouter 180 µl de solution tampon à chacun des tubes. Bien mélanger. Centrifuger 10 minutes à 10.600 rcf pour enlever tous les débris plaquettaires.

7. Une fois les éluats préparés, tester rapidement pour ne pas permettre aux anticorps de se rattacher aux débris plaquettaires ou congeler pour une utilisation ultérieure. Les éluats plaquettaires peuvent être congelés à -80°C pour une utilisation ultérieure. Continuer à l'étape 9 s'il n'y a que des éluats qui sont testés.

NOTE: Ne pas diluer les éluats.

Analyse de sérum/plasma pour des anticorps circulants

Préparation des échantillons et contrôles

8. Diluer comme suit et bien mélanger:

	Volume de diluant pour échantillon	Volume d'échantillon
PC	150 µl	50 µl
NC	300 µl	100 µl
Échantillon de patient	300 µl	100 µl

9. Retirer la monture de micropuits du sachet. Retirer rapidement et resceller toutes barrettes non utilisées dans le sachet protecteur.

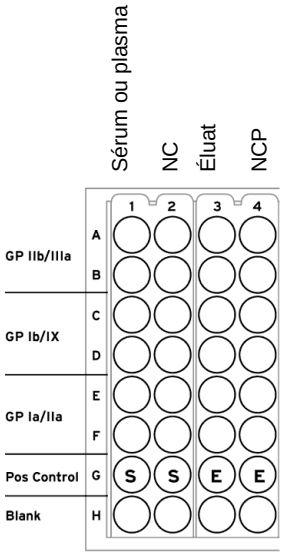
NOTE: Une seule monture est fournie par coffret. Ne pas la jeter jusqu'à ce que toutes les bandes aient été utilisées.

NOTE : Orienter la plaque afin que le puits A1 se situe dans le coin en haut à gauche. Soyez certain que toutes les barrettes soient mises de façon appropriées et insérées à la plaque. Etiqueter ou numéroter chaque barrette afin d'éviter des erreurs. Maintenir la même orientation de plaque durant tout l'essai.

10. Ajouter 300 µl de solution de lavage de travail à chaque puits et laisser reposer 5 à 10 minutes à la température de la pièce.

11. Aspirer ou décanter énergiquement et inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.

12. Ajouter 50 µl de l'éluat approprié, du contrôle dilué ou du sérum/plasma du patient dans les puits d'une colonne comme le montre la figure 1.



S = Sérum contrôle positif
E = Éluat de plaquettes positives
NC = Sérum contrôle négatif
NCP = Éluat de plaquettes normales

Figure 1

NOTE: Ne pas ajouter d'échantillons ou de réactifs aux puits vierges.

NOTE: Si plusieurs échantillons de patients différents sont testés en même temps, une seule série de contrôles est nécessaire. ÉTIQUETTER CHAQUE BANDE POUR EVITER LES ERREURS.

13. Sceller les micropuits avec un scellant pour plaques et incuber 30-35 minutes à 37°C au bain-marie. Si un incubateur sec est utilisé au lieu du bain-marie, augmenter le temps d'incubation de 10 minutes.

14. Diluer le conjugué 1 dans 100 dans le tampon pour échantillon. Utiliser un contenant en polypropylène.

Bandes	**2-2x8**	**6-2x8**
AH	20 µl	60 µl
SD	2,0 ml	6,0 ml

NOTE: Le conjugué est une solution visqueuse. Amorcer les embouts de pipette en prélevant-distribuant 2-3 fois dans le conjugué avant de l'ajouter au tampon pour échantillon; rincer après chaque distribution. **Bien mélanger.**

15. ÉTAPES DE LAVAGE

    a) Aspirer ou décanter le contenu de chaque puits et presser sur de tissu-éponge absorbant.
    b) Ajouter 300 µl de solution de lavage de travail.
    c) Aspirer ou décanter.
    d) Répéter les étapes b et c pour un total de 3 à 4 lavages.
    e) Après le dernier lavage, décanter vigoureusement pour enlever toute solution de lavage résiduelle. Retourner sur un tissu-éponge absorbant pour éviter l'assèchement.

NOTE: Il est important d'enlever complètement toute la solution de lavage après le dernier lavage.

16. Ajouter 50 µl de conjugué dilué (préalablement préparé) à chaque puits SAUF aux puits désignés VIERGES.

17. Sceller les micropuits avec un scellant pour plaques et incuber 30-35 minutes à 37°C au bain-marie. Si un incubateur sec est utilisé au lieu du bain-marie, augmenter le temps d'incubation de 10 minutes.

18. Dissoudre le substrat PNPP en ajoutant 0.5 ml d'eau déionisée ou distillée à la fiole. Remettre le bouchon et bien mélanger. Protéger de la lumière jusqu'à utilisation.

19. Diluer le PNPP 1 dans 100 dans le tampon de substrat.

Bandes	**2-2x8**	**6-2x8**
PN	40 µl	120 µl
SB	4,0 ml	12.0 ml

    Bien mélanger. Protéger de la lumière jusqu'à utilisation.

20. ÉTAPES DE LAVAGE

    a) Aspirer ou décanter le contenu de chaque puits et presser sur de tissu-éponge absorbant.
    b) Ajouter 300 µl de solution de lavage de travail.
    c) Aspirer ou décanter.
    d) Répéter les étapes b et c pour un total de 3 à 4 lavages.
    e) Aprés le derniere lavage, décanter vigoureusement pour enlever toute solution de lavage résiduelle. Inverser sur du tissu-éponge absorbant pour empêcher de s'assécher.

    Poursuivre rapidement les trois prochaines étapes.

21. Ajouter 100 µl de la solution de PNPP diluée à chaque puits SAUF ceux désignés VIERGES.

22. Incuber les micropuits à l'abri de la lumière pendant 30 minutes à la TEMPÉRATURE DE LA PIECE (22-25°C).

NOTE: Le temps et la température d'incubation suite à l'ajout du PNPP sont critiques. NE PAS varier le temps et la température d'incubation établis. À des fins d'uniformité, débuter le chronométrage rapidement après l'ajout du réactif au premier puits.

23. Arrêter la réaction par l'ajout de 100 µl de solution d'arrêt à chaque puits dans le même ordre que celui utilisé lors de l'ajout du substrat. Ajouter 200 µl de la solution d'arrêt aux puits vierges.

24. Lire la densité optique de chaque puits à 405 ou 410 nm en utilisant un filtre de référence de 490 nm. Si les résultats ne peuvent être lus immédiatement, laisser les puits à l'abri de la lumière jusqu'à 30 minutes.

25. Soustraire la valeur obtenue pour les puits vierges de tous les puits contenant les contrôles et les échantillons. Plusieurs instruments de lecture ÉLISA sont programmés pour faire ce calcul automatiquement.

26. Enregistrer les résultats obtenus sur le tableau de résultats.

CONTROLE QUALITÉ

Le contrôle qualité de l'essai PakAuto est incorporé au système d'analyse: des contrôles positifs et négatifs se trouvent dans la trousse. Lors de l'analyse du sérum/plasma, utiliser le sérum contrôle positif et le sérum contrôle négatif. Lors de l'analyse d'échantillons élués, inclure les plaquettes de contrôles positives et les plaquettes de contrôles normales. Ces contrôles doivent être inclus dans chacun des runs d'analyse pour aider à déterminer si des erreurs techniques ou des échecs de réactifs se sont produits pendant l'essai.

Critères pour valider le test:

	Contrôle Négatif	Contrôle Positif
Eluat	≤ 0,100 (rangée IIb/IIIa)	≥ 1,000
Sérum	≤ 0,160 (rangée IIb/IIIa)	≥ 1,000

Les valeurs de densité optique obtenues pour les duplicatas devraient être inférieures à 20% de la moyenne des deux valeurs. Les échantillons pour lesquels les résultats sont à l'extérieur de cette limite devraient être retestés.

NOTE: De mauvaises valeurs de duplicatas peuvent être causées par l'omission d'un réactif ou de l'échantillon, l'ajout inégal des réactifs, une température d'incubation inégale, une exposition à la lumière errante lors de l'incubation finale ou par une contamination entre puits. L'absence de résultats de tests en duplicata peut mener à l'approbation de résultats erronés.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats de tests démontrant des valeurs de densité optique égales ou plus grandes que 2X la valeur obtenue pour la moyenne des contrôles négatifs des glycoprotéines correspondantes (2 valeurs de contrôles négatifs pour chaque glycoprotéine) sont considérés comme résultats positifs.

LIMITES DE LA TECHNIQUE

- Des résultats erronés peuvent être causés par une contamination bactérienne des matériaux du test, des périodes d'incubation inadéquates, un mauvais lavage ou décantage des puits, une exposition du substrat à la lumière, l'omission de réactifs, une exposition à des températures plus élevées ou plus faibles que celles prescrites, un manque ou un excès de plaquettes, ou l'omission d'étapes.
- La présence de complexes immuns ou autres agrégats d'immunoglobulines dans les échantillons de patients peut causer une augmentation de la liaison non-spécifique et produire de faux positifs dans cet essai.
- Certains faibles titres d'anticorps à faible affinité ne peuvent être détectés par cet essai.
- Les résultats de cet essai ne devraient pas être utilisés comme le seul fondement d'un jugement clinique.
- Ce produit est conçu spécifiquement pour détecter les auto-anticorps élués des plaquettes du patient. Par conséquent, une réaction positive obtenue avec seulement le sérum ou le plasma du patient n'indique pas nécessairement la présence d'un auto-anticorps. Les allo-anticorps spécifiques de plaquettes peuvent aussi être réactifs dans ce test.
- Le coffret PakAuto est conçu pour détecter les auto-anticorps réactifs avec les glycoprotéines de plaquettes IIb/IIIa, Ib/IX, et Ia/IIa. Les auto-anticorps dirigés contre d'autres protéines plaquettaires ne sont pas supposés réagir dans ce test.
- Il est possible qu'un auto-anticorps donne un faux résultat négatif à cause de l'obstacle stérique des auto-anticorps humains créé par les anticorps monoclonaux de souris utilisés pour isoler les glycoprotéines plaquettaires.
- Le PakAuto est conçu pour être utilisé comme test de dépistage. Il ne faut pas se baser que sur les modèles de réactions produits par ce test sur l'échantillon à analyser pour identifier un anticorps plaquettaire. C'est pourquoi, les résultats positifs ou négatifs obtenus en utilisant cet essai doivent être utilisés en conjonction avec les signes cliniques et d'autres tests sérologiques.

PERFORMANCES SPÉCIFIQUES

Lorsque bien entreposé et utilisé selon le mode opératoire décrit ci-dessus, ce produit peut détecter les auto-anticorps dirigés contre les glycoprotéines plaquettaires comme défini dans la feuille d'enregistrement (Recording Sheet).

Afin d'assurer une réactivité et une spécificité adéquates, chaque lot de PakAuto est testé avant la mise en vente avec des échantillons connus pour posséder des auto-anticorps réactifs avec les glycoprotéines identifiées sur le tableau de résultats inclus ainsi que des échantillons connus pour ne pas posséder ces mêmes anticorps.

Évaluation de la Performance

Méthode Comparative

coffret PakAuto	**Positif**	**Négatif**	**Total**
Positif	24	1	25
Négatif	23	49	72
Total	47	50	97

Concordance: 75,3%
Co-positivité: 51,1%
Co-négativité: 98%
Méthode Comparative PAIgG =IgG associés aux plaquettes* (Cytométrie en flux)
* PAIgG a un coefficient de prévision d'un test positif faible (AITP).[6,7]

RÉFÉRENCES

1. George JN, El-Harake MA, Raskob GE: N. Engl J. Med 331:1207, 1994.
2. George JN, El-Harake MA, Aster RH: Thrombocytopenia due to enhanced platelet destruction by immunologic mechanisms. In Williams Hematology, E Boytler, et al., eds, 5th ed, McGraw-Hill, 1995, p 1315.
3. Bussel JP, Schreiber AD: Immune thrombocytopenic purpura. In Hematology: Basic Principles and Practice, R. Hoffman, et al., eds, Churchill Livingstone, Inc., New York, 1991, p 1485.
4. McMillan R, Imback PA: Immune thrombocytopenic purpura. In Thrombosis and Hemorrhage, J. Loscalzo and Al Schafer, eds, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1994, p 575.
5. Aster RH: The immunologic thrombocytopenias. In Platelet Immunology, TJ Kunicki, JN George, eds, Lipincott, Philadelphia, 1989, p 387.
6. Kelton JG, Powers PJ, Carter CJ: A Prospective Study of the Usefulness of the Measurement of Platelet-Associated IgG for the Diagnosis of Ideopathic Thrombocytopenia Purpura. Blood 1982; 60 No.4: 1050.
7. McMillan R, et.al. Platelet associated and Plasma Anti-Glycoprotein Autoantibodies in Chronic ITP. Blood, 1987; 70 No.4: 1040.
8. American Association of Blood Banks, Blood FAQ, www.aabb.org/resources/bct/Pages/bloodfaq.aspx, September 12, 2013.
9. Canadian Blood Services, Clinical Guide to Transfusion 2. Blood Components: www.transfusion medicine.ca, March 2013.
10. Roback, John D., Combs, Martha Rae, Grossman, Brenda J., Hillyer, Christopher D., Technical Manual AABB, Sixteenth Edition, 2008.

Immucor GTI Diagnostics, Inc.
20925 Crossroads Circle
Waukesha, WI 53186 USA

EC REP
Immucor Medizinische Diagnostik GmbH
Adam-Opel-Strasse 26A
Rodermark 63322
Germany

US and International Contact Information:
Technical Support : waukeshatechsupport@immucor.com

www.immucor.com

© 1996-2014 Immucor GTI Diagnostics, Inc

303467.IFUFR Rev F
2015-05-15

Warning	Attention
Danger	Danger
H302	Nocif en cas d'ingestion
H318	Provoque des lésions oculaires graves
H412	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme
EUH032	Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique
P264	Se laver les mains soigneusement après manipulation
P270	Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit
P273	Éviter le rejet dans l'environnement
P280	Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage
P301 + P312	EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin en cas de malaise
P305 + P351 + P338	EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
P310	Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin
P330	Rincer la bouche